

令和 3 年 5 月 10 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02877

研究課題名(和文)線維芽細胞が産生する新規液性因子の肝胆膵癌悪性化の機序解明と革新的治療の開発

研究課題名(英文) New humoral factor facilitates hepato-biliary and pancreatic cancer progression and development of innovative therapy

研究代表者

調 憲 (Shirabe, Ken)

群馬大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：70264025

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：1. 肝細胞癌や肝内胆管癌において、ConophyllineやNintedanibがCAFをターゲットとした治療が有効であることを示した。2. M2BPはHSCが産生していることを明らかにした。M2BPGiがin vitroで複数のヒト肝癌細胞株の増殖・浸潤を促進することを示し、ヒト肝細胞癌株を用いたマウス皮下腫瘍モデルでM2BPGiを持続投与することで増殖の促進が起こることを明らかにした。4. Galectin 3阻害剤においてはプロトタイプ阻害剤の開発は終了しており、一定の効果を認めている。さらにgalectin 3との親和性を高めるために新たな化合物の作成を推進している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

難治癌の代表とされる肝胆膵がんの増殖進展において癌関連線維芽細胞が重要な役割を担っていることが明らかになった。さらに癌関連線維芽細胞と癌細胞の関連においてM2BPGiという肝線維化の新規血清マーカーが癌関連線維芽細胞や肝硬変の星細胞で産生され、癌細胞の増殖・進展を促進する新たな分子機序が明らかになった。その関連を遮断するgalectin 3阻害剤の有用性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：M2BPGi and galectin-3 proteins co-localised in HCC cells, while M2BP mRNA was detected in cirrhotic liver stromal cells. mTOR signaling was upregulated in M2BPGi-treated HCC cells. Moreover, M2BPGi treatment induced tumour-promoting effects on HCC in vitro by activated mTOR signaling. In addition, M2BPGi bound to galectin-3 to induce membranous galectin-3 expression in HCC cells. In vivo, M2BPGi enhanced the growth of xenografted HCC. M2BPGi is produced in stromal cells of the cirrhotic liver. Furthermore, M2BPGi enhances the progression of HCC through the galectin-3/mTOR pathway. Therefore, galectin 3 inhibitor would be quite effective in M2BPGi. We have already developed the prototype galectin 3 inhibitor and we are now on the way of new galectin 3 inhibitor production, which has extremely high affinity to galectin 3.

研究分野：消化器外科学

キーワード：肝胆膵がん 癌関連線維芽細胞 M2BPGi

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

われわれはがんの微小環境がもたらす悪性化について研究を進めてきた。特にがんの組織に存在する免疫担当細胞である macrophage (tumor associated macrophage: TAM) に関して研究を進めてきた。肝細胞癌に対する切除、肝移植後の予後に好中球/リンパ球比(NLR)が高い症例では、低い症例に比べて有意に予後不良であることを示した。また、NLR の高い症例では CD163 陽性細胞(M2 macrophage: TAM)が腫瘍局所に多く認められることを示してきた。(Shirabe K, et al. Surg Today. 2012;42(1):1-7, Mano Y, et al. Mano Y, Shirabe K, et al. Ann Surg. 2013;258(2):301-5, Motomura T, Shirabe K, et al. J Hepatol. 2013;58(1):58-64, )しかしながら、腫瘍局所に TAM がリクルートされる理由に関しては不明であった。われわれは病理学的に肝細胞癌の被膜直下に TAM が集積されている所見を見出しており、肝細胞癌の被膜に存在するいわゆる腫瘍関連線維芽細胞 (Cancer Associated Fibroblasts: CAF)がその一因ではないかと考えるに至った(Kubo N, et al. World J Gastroenterol. 2016 Aug 14;22(30):6841-50. 癌局所に存在する CAF は様々なサイトカインやケモカインを産生しており、癌の増殖・浸潤の促進をすることが知られている。肝細胞癌では癌の被膜に多く存在し、また胆・膵癌では線維に富んだ腫瘍の代表として理解されており、難治癌の代表とされる肝胆膵癌の難治性の機序に深く関わっているものと考え。

一方、近年肝の線維化の血清マーカーとして M2BPGi が集目されている。われわれは当初よりその臨床的有用性を報告してきた(Toshima T, et al. J Gastroenterol. 2015 Jan;50(1):76-84. Shirabe K, et al. J Gastroenterol. 2019 Feb;54(2):206-207). M2BPGi は肝硬変の患者の血清に多く見られる糖たんぱく質で、われわれは肝の星細胞(Hepatic stellate cell: HSC)が産生することを示してきた(Bekki Y, et al. J Gastroenterol Hepatol. 2017 ;32(7):1387-1393.)さらにこの糖たんぱく質は macrophage などの細胞膜に存在する galectin 3 と親和性が高く、それを介して macrophage を活性化することも明らかにした。

Galectin 3 は肝細胞癌を含めた種々のがんにおける発現が報告されている。我々は肝の HSC や CAF が産生する M2BPGi が癌の増殖・浸潤を促進するメディエーターとして作用するという新たな分子機序が存在するのではないかという仮説を立てた。さらに Galectin 3 と M2BPGi の結合を阻害することで新たな癌の治療が開発できるのではないかと考え、研究を開始した。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は以下のごとくである。1.難治癌の代表である肝胆膵癌の増殖・進展に CAF が関わっていることを明らかにする。2.CAF や肝の HSC が M2BPGi を産生し、M2BPGi が肝胆膵癌の悪性化に関わっている新たな分子機序を明らかにする。3.M2BPGi と galectin 3 の連関を遮断する新たながん治療への糸口とする。

### 3. 研究の方法

まず、肝胆膵がんにおいて切除標本から複数の CAF を樹立した。次いで、CAF の培養上清を用いてヒト肝胆膵がん細胞株を培養する系を確立した。さらにヒト癌細胞と CAF を添加し、作成した NOD/SCID マウスの皮下腫瘍モデルを樹立した。候補となる galectin 3 阻害剤の合成を行った。

### 4. 研究成果

1. 肝細胞癌や肝内胆管癌において、CAF がその増殖・浸潤を促進することを明らかにした。それに基づき、肝や肺の線維化を抑制する Conophylline や Nintedanib が CAF をターゲットと

した治療が有効であることを示した。(Yamanaka T, et al. Mol Cancer Ther. 2021 Mar 15. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-20-0150., Br J Cancer. 2020 Mar;122(7):986-994.)

2.M2BPGi に関して、ヒトの肝臓の切除標本を用いて M2BP の in situ hybridization を行い、M2BP は HSC が産生しており、その発現頻度が血清の M2BPGI 値と相関することを示した (Gantumur D, et al. Hepatol Res. 2021 Apr 20. doi: 10.1111/hepr.13648.)

3. さらにわれわれは肝のHSCや肝細胞癌のCAFがM2BPGiを産生することを明らかにした。M2BPGi が in vitro で複数のヒト肝癌細胞株の増殖・浸潤を促進することを示し、ヒト肝細胞癌株を用いたマウス皮下腫瘍モデルで M2BPGi を持続投与することで増殖の促進が起こることを明らかにした(Dolgormaa G, et al. Br J Cancer. 2020 Sep;123(7):1145-1153.)現在、同様の現象が膵癌でも起こることを見出しており、実験を継続中である。4. Galectin 3 阻害剤においてはプロトタイプ阻害剤の開発は終了しており、一定の効果を認めている。さらに galectin 3 との親和性を高めるために新たな化合物の作成を北海道大学薬学研究院の市川聡研究グループと共同研究で推進している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ishii Norihiro, Harimoto Norifumi, Araki Kenichiro, Muranushi Ryo, Hoshino Kouki, Hagiwara Kei, Gantumur Dolgormaa, Yamanaka Takahiro, Tsukagoshi Mariko, Igarashi Takamichi, Tanaka Hiroshi, Watanabe Akira, Kubo Norio, Shirabe Ken	4. 巻 49
2. 論文標題 Preoperative Mac 2 binding protein glycosylation isomer level predicts postoperative ascites in patients with hepatic resection for hepatocellular carcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Hepatology Research	6. 最初と最後の頁 1398 ~ 1405
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/hepr.13412	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamanaka Takahiro, Harimoto Norifumi, Yokobori Takehiko, Muranushi Ryo, Hoshino Kouki, Hagiwara Kei, Gantumur Dolgormaa, Handa Tadashi, Ishii Norihiro, Tsukagoshi Mariko, Igarashi Takamichi, Tanaka Hiroshi, Watanabe Akira, Kubo Norio, Araki Kenichiro, Shirabe Ken	4. 巻 122
2. 論文標題 Nintedanib inhibits intrahepatic cholangiocarcinoma aggressiveness via suppression of cytokines extracted from activated cancer-associated fibroblasts	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 British Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 986 ~ 994
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41416-020-0744-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hagiwara Kei, Harimoto Norifumi, Yokobori Takehiko, Muranushi Ryo, Hoshino Kouki, Gantumur Dorgormaa, Yamanaka Takahiro, Ishii Norihiro, Tsukagoshi Mariko, Igarashi Takamichi, Tanaka Hiroshi, Watanabe Akira, Kubo Norio, Araki Kenichiro, Hosouchi Yasuo, Shirabe Ken	4. 巻 27
2. 論文標題 High Co-expression of Large Tenascin C Splice Variants in Stromal Tissue and Annexin A2 in Cancer Cell Membranes is Associated with Poor Prognosis in Pancreatic Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Annals of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 924 ~ 930
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1245/s10434-019-07708-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shirabe K, Bekki Y, Gantumur D, Araki K, Ishii N, Kuno A, Narimatsu H, Mizokami M.	4. 巻 53
2. 論文標題 Mac-2 binding protein glycan isomer (M2BPGi) is a new serum biomarker for assessing liver fibrosis: more than a biomarker of liver fibrosis.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Gastroenterol.	6. 最初と最後の頁 819-826
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00535-017-1425-z. Epub 2018 Jan 9. Review.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Shirabe K, Bekki Y, Gantumur D, Araki K, Ishii N, Kuno A, Narimatsu H, Mizokami M.	4. 巻 54
2. 論文標題 Response to the letter by Dr. Naoya Yamada, and Dr. Koichi Mizuta regarding our manuscript: "Mac-2 binding protein glycan isomer (M2BPGi) is a new serum biomarker for assessing liver fibrosis: more than a biomarker of liver fibrosis".	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Gastroenterol	6. 最初と最後の頁 206-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00535-018-1524-5.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

#### 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	播本 憲史 (Harimoto Norifumi)  (00419582)	群馬大学・医学部附属病院・講師  (12301)	
研究分担者	石井 範洋 (Ishii Norihiro)  (00711508)	群馬大学・医学部附属病院・助教  (12301)	
研究分担者	久保 憲生 (Kubo Norio)  (10464744)	群馬大学・医学部附属病院・助教  (12301)	
研究分担者	五十嵐 隆通 (Igarashi Takamichi)  (20648472)	群馬大学・医学部附属病院・助教  (12301)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	市川 聡  (Ichikawa Satoshi)  (60333621)	北海道大学・薬学研究院・教授   (10101)	
研究分担者	横堀 武彦  (Yokobori Takehiko)  (60420098)	群馬大学・未来先端研究機構・准教授   (12301)	
研究分担者	新木 健一郎  (Araki Kenichiro)  (60431706)	群馬大学・大学院医学系研究科・助教   (12301)	
研究分担者	渡辺 亮  (Watanabe Akira)  (60738847)	群馬大学・医学部附属病院・助教   (12301)	
研究分担者	塚越 真梨子  (Tsukagoshi Mariko)  (60781317)	群馬大学・大学院医学系研究科・助教   (12301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関